



マウス遅発性片側海馬神経細胞死モデルの確立

著者	西畠 泰生
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第15676号
URL	http://hdl.handle.net/10097/58458

学 位 論 文 要 約

博士論文題目 マウス遅発性片側海馬神経細胞死モデルの確立

.....東北大学大学院医学系研究科 医科学専攻
神経・感覚器病態学講座.....神経外科学分野

氏名.....西 崑 泰生.....

【背景・目的】一過性の全脳（前脳）虚血再灌流後の神経細胞死が、脆弱な海馬 CA1 領域の錐体細胞に選択的、かつ遅発的に生じることが報告されている。ラットや砂ネズミなどのげっ歯類に対する一過性全脳（前脳）虚血負荷は、海馬 CA1 領域の遅発性神経細胞死のモデルとして汎用されており、近年の遺伝子組み換え技術の発展に伴い、遺伝子組み換え動物を用いて詳細な分子メカニズムが解明されることが期待されている。しかしながら、遺伝子組み換え実験動物として汎用されるマウスにおいては側副血行路の発達の程度に個体差が大きいことや、マウス自体が虚血耐性を有することなどから、再現性の高いモデルが確立されていない。すなわち、簡便な両側総頸動脈閉塞モデルでは海馬神経細胞死の範囲および程度の再現性に乏しく、脳底動脈閉塞などを追加し、虚血の程度を強めたモデルでは致死率や手技的な難易度が高くなることが問題となる。海馬への主要な栄養動脈は、PCA (posterior cerebral artery; 後大脳動脈) から分岐する longitudinal hippocampal artery であり、これは PcomA (posterior communicating artery; 後交通動脈) 合流部よりも末梢から分岐する。従って、PCA および PcomA の血流を遮断することにより、理論的には海馬虚血を誘導することができる。過去のモデルにおいては全脳もしくは両側前脳虚血負荷により海馬への虚血が誘導されていたため、長時間の強い虚血負荷は致死率が高くなり、また弱い虚血負荷だと海馬神経細胞死の程度に個体差が生じてしまう。このような観点から、我々は片側かつ選択的な海馬への虚血負荷により、致死率が低く、かつ高い再現性のある海馬神経細胞死が誘導できると仮定した。本研究では、簡便な手法を用いて再現性が高くかつ致死性の回避できるマウス遅発性片側海馬神経細胞死モデルの作成を目的とした。

【方法】海馬への虚血の程度を正確に評価すること、および致死率を下げることを意図して片側虚血とするものの2点に主眼を置いた。

C57BL/6 マウスに対し片側海馬への虚血を誘導するため、内頸動脈から PCA 起始部を閉塞するのに十分な長

さのシリコンコーティングを施した塞栓糸を挿入し、海馬の栄養血管である PCA の起始部を閉塞した。PCA 閉塞後の PcomA を介した海馬への側副血行を評価するために多点同時脳血流計測が可能な血流計である Laser speckle flowmetry (LSF) を用いて PCA 閉塞後の脳表の PCA 灌流領域の血流を計測した。5 分から 45 分の虚血負荷時間を振り分けた各群に対し脳虚血再灌流後にそれぞれ 24 時間、4 日、7 日目の時点での脳サンプルを採取し海馬を組織学的に評価した。さらに 15 分の虚血負荷マウスにおいて神経学的所見および生存率を評価した。

【結果】PCA 灌流領域において非虚血側と比較して 65%を超える血流低下を認めた個体では、15 分の虚血負荷で CA1 を含む領域に遅発性神経細胞死を認めた。さらにこれらの変性細胞は虚血後 4 日目の TUNEL および cleaved caspase-3 染色で陽性所見を呈した。一方 5 分の虚血負荷では遅発性神経細胞死は軽微であり、45 分の虚血負荷では皮質、基底核、海馬を含む脳梗塞像を呈した。15 分の PCA 虚血群では、虚血後 24 時間、4 日、7 日の時点でそれぞれ 95.8%、100%、100%と高い生存率が得られた。神経学的には、生存したマウスには比較的軽微な運動機能の低下を認めたのみだった。

【考察・結論】C57BL/6 マウスにおいて血管内塞栓糸で PCA を閉塞し、LSF を用いて PCA 灌流領域の血流が低下した群を選別することで、15 分の一過性海馬虚血負荷により再現性の高い遅発性神経細胞死を片側海馬 CA1 領域に認めた。本モデルにより誘導される神経細胞死は、従来の tGCI (transient global cerebral ischemia; 一過性全脳 (前脳) 虚血) モデルにより生じる神経細胞死と組織学的に類似したものであった。我々の確立したモデルは、高い再現性と低い致死率を兼ね備え、従来の tGCI による海馬神経細胞死モデルと比しても有用性が明らかである。また虚血後 7 日目の時点で長期生存が可能な運動機能を有しているため、遅発性神経細胞死の分子メカニズムのみならず、より長期の観察が必要となる神経再生や記憶、学習、行動などの高次脳機能、てんかんなどの研究分野に応用できる可能性もある。さらに、本モデルでは従来の tGCI モデルでは得ることができなかった内部対照が常に非虚血側海馬から得られることも大きな利点である。